

## 別紙 1

### 論文の内容の要旨

論文題目

#### Physiological roles of adiponectin/AdipoRs in skeletal muscle bioenergetics

-Disruption of AdipoRs resulted in mitochondrial dysfunction in skeletal muscle-  
骨格筋におけるアディポネクチン経路の生理的意義の解明

指導教員 門脇 孝 教授

東京大学大学院医学系研究科

平成 17 年 4 月入学

医学博士課程

内科学専攻

氏名 岩部 真人

#### 【背景と目的】

わが国の死因の第一位を占める心血管疾患(心筋梗塞、脳梗塞など)の主要な原因は、肥満を基盤として耐糖能障害・脂質異常・高血圧が一個人に重積するいわゆるメタボリックシンドロームと考えられる。戦後の生活習慣の変化(高脂肪食・運動不足等)は肥満・脂肪細胞肥大化を助長するが、近年、この脂肪細胞肥大化が、脂肪細胞から分泌される生理活性物質“アディポカイン”の産生分泌異常を招き、インスリン感受性を悪化させることが明らかとなってきた。アディポカインのひとつであるアディポネクチンおよびその受容体であるアディポネクチン受容体(AdipoR)は肥満および 2 型糖尿病で発現が低下し、インスリン抵抗性や耐糖能障害を惹起する。また、アディポネクチン作用を増強させることは肥満に伴うインスリン抵抗性や糖尿病の効果的な治療手段となることが明らかとなっている。その作用メカニズムのひとつとして、アディポネク

チンは骨格筋において AdipoR を介した AMP-activated protein kinase (AMPK) の活性化により、脂肪酸燃焼を促進することが明らかとなっている。実際に AdipoR1・R2 ダブル欠損マウスの骨格筋では、アディポネクチンによる AMPK の活性化は低下し、糖取り込みの有意な低下が認められた。また、ここ数年、ヒトのインスリン抵抗性や 2 型糖尿病の原因の一つとして、骨格筋におけるミトコンドリアの機能低下が関連する可能性が注目されている。大変興味深いことに、骨格筋における AMPK の活性化がミトコンドリアの機能に関与することも報告されている。そこで、今回、組織特異的 AdipoR 欠損マウスを樹立し、アディポネクチン/AdipoR 経路の骨格筋における生理的意義の解明をミトコンドリア機能を中心に試みた。

## 【結果】

### **Muscle-specific AdipoR1 欠損マウスの骨格筋においては、アディポネクチンによる AMPK のリン酸化は低下していた**

アディポネクチン投与実験において、Muscle-specific AdipoR1 欠損マウスの骨格筋においては、コントロールマウスと比較し、アディポネクチンによる AMPK のリン酸化は有意に低下していたが、肝臓におけるアディポネクチンによる AMPK のリン酸化はコントロールマウスと比較し低下していなかった。このことより、Muscle においては、AdipoR1 はアディポネクチンによる AMPK のリン酸化に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

### **Muscle-specific AdipoR1 欠損マウスの骨格筋においては、ミトコンドリア生合成および機能調節をしている分子の発現が低下していた**

次に RT-PCR 法を用いて Muscle-specific AdipoR1 欠損マウスの骨格筋における遺伝子発現の解析を行った。Muscle-specific AdipoR1 欠損マウスの骨格筋においては、ミトコンドリア生合成及び機能調節をしている peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  coactivator 1  $\alpha$  (PGC-1  $\alpha$ ) や、その発現誘導に重要な myocyte enhancer factor 2 (MEF2) の発現が有意に低下していた。このことより Muscle においては、AdipoR1 は AMPK によって誘導される MEF2 とその標的遺伝子である PGC-1  $\alpha$  の発現を正に制御していることが示唆された。さらに、Muscle-specific AdipoR1 欠損マウスの骨格筋においては、ミトコンドリア DNA 複製・翻訳に関わる mitochondrial transcription factor A (mtTFA) 及び転写に関わる nuclear respiratory factor 1 (NRF-1) の発現が有意に低下していた。以上より、Muscle においては、AdipoR1 はミトコンドリア DNA 複製およびミトコンドリア構成タンパク質の転写・翻訳の制御に重要な役割を果たしていることが示唆された。

### **Muscle-specific AdipoR1 欠損マウスの骨格筋においては、ミトコンドリア構成タンパク質の遺伝子発現およびミトコンドリア DNA 含量が低下していた**

ミトコンドリア構成タンパク質の遺伝子発現を解析したところ、Muscle-specific AdipoR1 欠損マウスの骨格筋においては、ミトコンドリア DNA 由来の cytochrome c

oxidase II およびゲノム DNA 由来の cytochrome c (CytC)、medium chain acyl-CoA dehydrogenase (MCAD)等の発現低下が認められた。また、ミトコンドリア DNA コピー数をゲノム DNA あたりで定量的に調べたところ、ミトコンドリア DNA 含量は有意に低下しており、Muscleにおいては、AdipoR1はミトコンドリア DNA 含量及び機能の正の制御に生理的に重要な役割を果たしていることが示唆された。

### **Muscle-specific AdipoR1 欠損マウスの骨格筋においては、type1 fiber が低下していた**

次に、骨格筋における PGC-1 $\alpha$  は筋繊維の type を制御していることが報告されているため、骨格筋におけるアディポネクチン/AdipoR1 経路がこれらの生理的機能に関与しているかを検証した。

Muscle-specific AdipoR1 欠損マウスの骨格筋においては、type1 fiber の制御に重要な役割を果たす peroxisome proliferator-activated receptor  $\delta$  (PPAR  $\delta$ ) の発現が有意に低下していた。

更に、type1 fiber のマーカーである Troponin I (Slow)等の mRNA およびタンパク質の発現は有意に低下していたことより、Muscle における AdipoR1 は type1 fiber の制御に関与している可能性が示唆された。

### **Muscle-specific AdipoR1 欠損マウスは運動持久力が低下していた**

Muscle-specific AdipoR1 欠損マウスでは、骨格筋の type1 fiber が少ないことが示唆されたため、運動持久力をトレッドミル運動負荷試験で検証したところ、Muscle-specific AdipoR1 欠損マウスでは有意に運動持久力が低下していた。一方、CT 解析により、マウス下腿部の骨格筋の体積を測定したが、筋量には有意な差は認められなかった。

### **Muscle-specific AdipoR1 欠損マウスの骨格筋においては、酸化ストレスの消去に関わる分子の発現が低下していた**

Muscle-specific AdipoR1 欠損マウスでは、骨格筋におけるアディポネクチンの AMPK のリン酸化は低下し、PPAR  $\delta$  の有意な発現低下が認められたため、酸化ストレスの消去に関わる super oxide dismutase 2 (SOD2) や Catalase の発現量を検証したところ、Muscle-specific AdipoR1 欠損マウスの骨格筋においては、両者とも有意に低下しており、Muscle においては、AdipoR1 は酸化ストレス消去に関わる分子の発現を正に制御している可能性が示唆された。

### **Muscle-specific AdipoR1 欠損マウスではインスリン抵抗性や耐糖能障害が認められた**

グルコースクランプ試験において Muscle-specific AdipoR1 欠損マウスは、コントロールマウスと比べ、糖取り込みと糖利用が有意に低下しており、Muscle における AdipoR1 の欠損によって糖取り込みの低下が惹起されることが示唆された。

更に糖負荷試験において、Muscle-specific AdipoR1 欠損マウスでは、コントロール

マウスと比べ、糖負荷後の有意な血糖の上昇と有意なインスリン値の上昇が認められ、Muscle においては、AdipoR1 はインスリン感受性、糖代謝の制御に生理的に重要な役割を果たしていることが示唆された。

### 【考察】

今回、Muscle-specific AdipoR1欠損マウスの解析により、少なくともプライマリーに Muscle で AdipoR1が欠損することにより、アディポネクチンによる骨格筋での AMPK のリン酸化の低下、MEF2/PGC-1 $\alpha$  の発現低下、ミトコンドリア DNA 含量および構成タンパク質の発現低下、SOD2、Catalase 等の酸化ストレス消去系の低下が認められ、骨格筋でのインスリンの抵抗性や持久力の低下が認められた。

PGC-1 $\alpha$  を骨格筋に過剰発現させることにより、ミトコンドリア数の増加に伴うエネルギー消費の亢進が認められ、また、筋繊維の type は遅筋型の type1 fiber が増加する。一方、骨格筋特異的 PGC-1 $\alpha$  欠損マウスでは、Muscle-specific AdipoR1欠損マウスと同様のミトコンドリア構成タンパク質の発現低下、運動持久力の低下が認められることから、Muscle-specific AdipoR1欠損マウスの表現型の少なくとも一部は、PGC-1 $\alpha$  が関与していることが示唆される。

### 【結論】

アディポネクチン/AdipoR1 経路が骨格筋において MEF2、PGC-1 $\alpha$ 、ミトコンドリア機能や量の調節および酸化ストレス消去を行い糖代謝や運動持久力を調節している可能性が示唆された。Muscle での AdipoR1はこれらの作用にプライマリーに重要な役割を果たしていることが示唆された。